

1

Introdução e objetivos

1.1.

Importância da especiação

De acordo com a IUPAC (International Union of Pure Applied Chemistry), o termo análise de especiação é definido como a atividade analítica capaz de identificar e/ou medir as quantidades de uma ou mais espécies químicas individuais em uma amostra. Nos últimos anos, o número de estudos nesta área tem crescido devido ao fato de que muitas vezes, para o analista, a concentração total de um elemento não explica seus efeitos nos diferentes ambientes (Cornelis, 2005).

Várias pesquisas já mostraram que a mobilidade, a biodisponibilidade, a acumulação e as propriedades toxicológicas dos metais são muito dependentes das formas químicas nas quais eles ocorrem na natureza (Dabek-Zlotorzynska *et al.*, 1998). Por exemplo, Cr(III) é um nutriente essencial para os seres humanos, enquanto que, Cr(VI) é tóxico. Outro exemplo é a ocorrência de arsênio em alimentos, pois mesmo que a concentração total de arsênio ultrapasse o limite aceitável, o produto pode ser aprovado, desde que a principal espécie seja a arsenobetaina, um composto orgânico atóxico; o contrário ocorre se estiverem presentes espécies inorgânicas de arsênio (p.ex. arsenato e/ou arsenito), que são altamente tóxicas (Olesik, 1995; Cornelis, 2005).

Desta forma, a determinação de metais pesados em amostras biológicas, em nível de traço e ultratraço, é de grande relevância para que se possa avaliar o metabolismo destes elementos nos seres humanos, principalmente, em relação ao grau de exposição e aos possíveis efeitos nocivos ao organismo. Com isto, o estudo da especiação é uma importante ferramenta para se ter informações sobre a atividade química, biológica e toxicológica de um elemento em particular (Das *et al.*, 2001; Timerbaev, 2001). Diversas técnicas de separação têm sido utilizadas para a análise de especiação elementar quantitativa, incluindo cromatografia em fase líquida (HPLC), cromatografia a gás (GC), cromatografia a fluido

supercrítico (SFC) e eletroforese capilar (CE). Para a detecção das espécies têm sido empregadas as técnicas espectrométricas de absorção atômica em chama (FAA) e em forno de grafite (GFAA), fluorescência atômica e molecular, emissão atômica e espectrometria de massas, sendo as duas últimas, em geral, com plasma indutivamente acoplado (Olesik *et al.*, 1995; Kannamkumarath, 2002).

O objetivo da análise de especiação é a obtenção de maior conhecimento das espécies que estão sendo estudadas: sua composição, sua massa, sua estabilidade, seu ciclo biológico e ambiental, suas transformações e as possíveis interações das espécies com a matéria viva ou inerte. No entanto, nem sempre é possível conseguir todas estas informações, por isto, devem-se escolher quais as mais importantes conclusões que se quer obter nos estudos de especiação elementar (Cornelis, 2005).

O arsênio, apesar de ser tóxico, é utilizado em diferentes setores da indústria e agricultura. Desta forma, é importante o estudo de cada espécie com que este elemento se apresenta na natureza, para que seja possível compreender seus efeitos nos diferentes ambientes, inclusive no que diz respeito à contaminação do ser humano. O arsênio é utilizado na ração animal como agente antiparasitário e para aumentar o apetite, acelerando assim, o crescimento do animal (Cornelis, 2005). No caso de cavalos, uma pequena dosagem de arsênio contribui para melhorar o pêlo do animal, porém, em cavalos de corrida, o controle da concentração de arsênio nos fluidos biológicos é um fator importante, pois a presença de altas concentrações ($> 300 \mu\text{g L}^{-1}$) de arsênio na urina do cavalo é considerado doping. Tem-se, então, uma oportunidade única de estudar a especiação de arsênio e da cinética de excreção do elemento pelo organismo do animal.

1.2.

Alguns aspectos do acoplamento entre eletroforese capilar e a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado

Pelos motivos expostos, há uma grande demanda pela otimização de técnicas analíticas eficientes para separar e identificar as diferentes espécies químicas presentes nos mais variados tipos de amostras. Os principais requisitos para tais técnicas são uma influência negligenciável do processo analítico na distribuição original das espécies e boa tolerância para matrizes complexas (Timerbaev, 2001). Além disto, a baixa concentração de algumas espécies torna necessário um cuidado especial no manuseio e estocagem da amostra e nas etapas de separação e detecção, evitando a contaminação, perdas ou mudança na natureza das espécies (Das *et al.*, 2001). Frequentemente, as análises de especiação elementar apresentam algumas deficiências como, por exemplo, consomem um longo tempo, possuem limites de detecção inadequados, são limitadas para alguns tipos de amostras, apresentam pouca eficiência de separação ou insuficiente seletividade (Olesik *et al.*, 1995). Desta forma, para obter resultados confiáveis nas análises de especiação, é fundamental aliar uma técnica com alto poder de separação à outra com alta sensibilidade analítica, fornecendo assim, os baixos limites de detecção requeridos em muitas aplicações.

A eletroforese capilar (CE, capillary electrophoresis) é uma técnica que possui alta eficiência de separação, pois possibilita separar espécies neutras, positivas ou negativas em uma única corrida. Além disto, a CE tem a vantagem de consumir um pequeno volume de amostra (da ordem de nL) e de permitir separações em um curto espaço de tempo. Fazendo uma comparação entre as técnicas de CE e HPLC (abreviação do inglês: high performance liquid chromatography), verifica-se que ao se empregar um detector espectrofotométrico, o limite de detecção (LD) expresso em concentração é aproximadamente 30 vezes maior na primeira técnica. No entanto, quando o LD é expresso em massa, o valor é cerca de 100 vezes menor na técnica de CE. Sendo assim, o detector ideal para CE deve ser sensível à massa e não deve depender do pequeno caminho óptico definido pelo capilar (Weinberger, 2000).

O espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado (ICPMS) é um detector seletivo multielementar, que permite alcançar limites de detecção extremamente baixos ($< \mu\text{g L}^{-1}$ para 30 a 40 elementos) e fornecer informações

isotópicas que possam ser utilizadas para identificação e quantificação das espécies. Desta forma, aliar a alta resolução da eletroforese capilar com a grande sensibilidade do ICP-MS, resulta em uma técnica hifenada valiosa para a especiação elementar.

1.3.

Objetivos deste trabalho

Este trabalho tem como objetivo principal a implementação no “Laboratório de Espectrometria de Massas (ICPMS) da PUC-Rio” de uma metodologia para acoplamento entre a eletroforese capilar (CE) e a ICPMS, demonstrando sua utilização como uma importante ferramenta para a especiação elementar em diferentes matrizes. Na literatura, encontram-se diversos trabalhos envolvendo a otimização de interfaces para o acoplamento entre estas duas técnicas. Neles, se revela que a configuração da interface é um parâmetro muito importante, pois dela depende a obtenção de resultados sensíveis, repetitivos e confiáveis nas análises de especiação elementar. Como a vazão eletroosmótica na técnica de CE é apenas na ordem de alguns nanolitros por minuto, sistemas convencionais de nebulização utilizados em ICPMS não se adaptam diretamente, e sistemas “caseiros” são os mais empregados.

O trabalho experimental está dividido em duas etapas, sendo a primeira a realização de testes comparativos entre diferentes interfaces CE-ICPMS, comerciais ou desenvolvidas no laboratório, para escolha da que apresenta melhor desempenho no que diz respeito à eficiência de nebulização. Foram avaliadas, em especial, a repetitividade e sensibilidade dos sinais obtidos em ICPMS, e a robustez da interface em trabalhos de rotina. A segunda etapa deste trabalho consistiu no desenvolvimento e validação de uma metodologia para a análise de especiação de arsênio e de sua aplicação em dois estudos.

O primeiro estudo referiu-se a uma avaliação preliminar sobre os teores de arsênio e de suas espécies em sucos de uva vendidos no Brasil. O segundo estudo relata as primeiras experiências a respeito da absorção e eliminação de uma droga a base de monometilarsenato (Arsenil®, Schering - Plough) em cavalos, visando a obtenção de dados inéditos sobre a taxa de excreção desta droga com aplicações

em testes antidoping.